



Påvirker pesticider tarmens bakteriesamfund - og hvad kan det betyde for sundheden?

Nielsen, Lene Nørby; Roager, Henrik Munch; Escola Casas, Monica; Frandsen, Henrik Lauritz; Gosewinkel, Ulrich; Bester, Kai; Licht, Tine Rask; Bohse Hendriksen, Niels; Bahl, Martin Iain

Published in:
Miljø og sundhed

Publication date:
2017

Document Version
Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link back to DTU Orbit](#)

Citation (APA):
Nielsen, L. N., Roager, H. M., Escola Casas, M., Frandsen, H. L., Gosewinkel, U., Bester, K., Licht, T. R., Bohse Hendriksen, N., & Bahl, M. I. (2017). Påvirker pesticider tarmens bakteriesamfund - og hvad kan det betyde for sundheden? *Miljø og sundhed*, 23(Suppl. 1), 9-13.

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Påvirker pesticider tarmens bakteriesamfund - og hvad kan det betyde for sundheden?

Af Lene Nørby Nielsen¹, Henrik M. Roager¹, Mònica Escolà Casas², Henrik L. Frandsen¹, Ulrich Gosewinkel², Kai Bester², Tine Rask Licht¹, Niels Bohse Hendriksen², Martin Iain Bahl¹

Der er i dag ingen tvivl om at det naturlige mikrobielle samfund, der lever på og i vores krop, har stor betydning for vores sundhed. Særligt er sammensætningen af det meget komplekse og talrige bakteriesamfund, der findes i tarmen, kaldet tarmens mikrobiota, blevet koblet til en række vestlige livstilssygdomme som fx type-2 diabetes, metabolisk syndrom og fedme (1). Ved kostændringer og antibiotikabehandling ved vi, at både sammensætningen og aktiviteten af det bakterielle samfund kan påvirkes (2,3). Selvom flere pesticider indeholder aktivstoffer med antimikrobielle egenskaber, ved vi ikke særligt meget om risikoen for, at de kan forårsage ændringer i tarmens bakteriesamfund (4). Spørgsmålet er derfor, om de restmængder, der tillades i kornprodukter, frugt og grøntsager, og som vi hver dag eksponeres for, kan påvirke økosystemet i tarmen – og om dette kan medføre en sundhedsrisiko (5). I denne henseende har vi netop afsluttet et studium, der ved brug af en rottemodel undersøgte potentielle mikrobiota-forstyrrende effekter af glyphosat (6).

Bakterierne i tarmen

Inden vi vender tilbage til dette studium, skal vi have det grundlæggende på plads. Tarmen er koloniseret af et komplekst samfund af mikroorganismer, der spiller en stor rolle for sundhed og sygdom hos mennesker. De bakterier, der findes naturligt i tarmen, er ikke er til-

fældigt forekommende, men snarere et resultat af mange millioner af års co-evolution med mennesket og andre pattedyr som vært (7). Bakteriesamfundet som helhed lever i hovedtræk godt af at være i et sikkert miljø med forholdsvis påregnelig tilgang af næring hver gang vi spiser. Samtidig bidrager bakterierne positivt til værten gennem øget energiudvinding fra føden, syntese af vitaminer, vi ikke selv kan danne samt beskyttelse mod udefrakommende sygdomsfremkaldende bakterier. Herudover menes mikrobiotaen at spille en vigtig rolle i forbindelse med programmering og etablering af et velfungerende immunsystem (8) og er sandsynligvis også involveret i appetitregulering (9). På grund af dette komplekse samspil, hvor vi endnu ikke forstår præcis hvilke interaktioner, der er vigtige, kan ændringer af bakteriesamfundet forårsaget af udefrakommende påvirkninger potentielt have skadelig effekt.

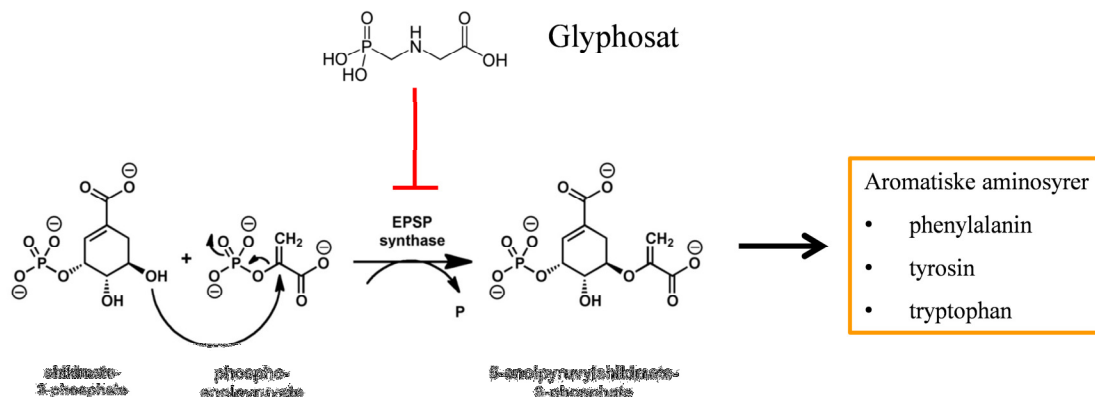
Risikovurdering af pesticider i forhold til påvirkning af bakteriesamfund

I forbindelse med risikovurdering af pesticider og fastlæggelse af grænseværdier for indtag er mikrobielle påvirkninger stort set ikke belyst. De eneste krav, der findes i dag, relaterer sig til omsætning af kulstof og nitrogen i jordmiljøet forårsaget af bakterielle samfund i dette miljø. Pesticider, herunder herbicider, insekticider og fungicider, der bruges i vid udstrækning i landbruget, har i nogle tilfælde også vist sig at kunne påvirke bakteriel vækst af tarmbakterier (4). Dette giver en bekymring i forhold til mulig påvirkning af det bakterielle samfund i tarmen som konsekvens af indtag af restmængder af pesticider gennem kosten. Aktivstofferne i pesticider bliver i forbindelse med

¹ Fødevareinstituttet, Danmarks Tekniske Universitet

² Institut for Miljøvidenskab, Aarhus Universitet

A



B

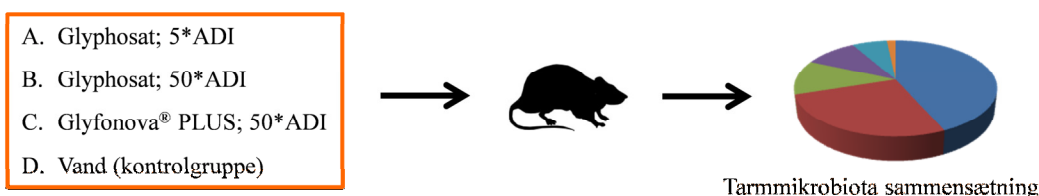


Fig. 1 (A) Glyphosat inhiberer EPSPS enzymet i Shikimate syntesevejen, hvilket medfører, at organismen ikke længere er i stand til at producere aromatiske aminosyrer. (B) I dyreforsøget doseres Sprague Dawley rotter oralt med enten vand, glyphosat eller den kommercielle formulering Glyphonova® Plus i en periode på 2 uger. Sammensætningen af bakteriesamfundet bestemmes umiddelbart før doseringen starter samt efter de 2 uger i både tyndtarm, cecum (blindtarm) og tyktarmen på rotterne ved brug af 16S rRNA gen-sekventering.

godkendelse undersøgt for bl.a. kræftfremkaldende, allergifremkaldende og hormonforstyrrende egenskaber, og spørgsmålet er altså, hvorvidt man også bør undersøge, om disse stoffer har mikrobiota-forstyrrende egenskaber.

Fokus på glyphosat, der er det aktive stof i ukrudtsmidlet Roundup®

Pesticider med det aktive stof glyphosat er hyppigt anvendt i Danmark såvel som i resten af verden til bekæmpelse af ukrudt samt til nedvisning af afgrøder. Denne omfattende brug kan medføre pesticidrester i vores fødevarer og drikkevand. Undersøgelser viser faktisk også, at der i flere tilfælde kan findes rester af glyphosat i urin hos både børn og voksne, hvilket bekræfter en almen eksponering og absorption i kroppen (10-12). Absorption af

pesticidrester fra fødevarer foregår igennem mave-tarmkanalen, hvor stofferne optages over tarmvæggen. Tidligere studier har rapporteret, at glyphosat påvirker bakteriel vækst, fordi bakterier i lighed med planter ofte besidder netop den syntesevej for aromatiske aminosyrer, som specifikt hæmmes af glyphosat (figur 1A). Endnu vigtigere viser nogle af disse studier endvidere, at særligt de bakteriegrupper, der oftest klassificeres som særligt gavnlige i tarmen som fx mælkesyrebakterier, lader til at være mere sensitive overfor glyphosats påvirkning end bakteriegrupper, der i nogle tilfælde kan være problematiske som fx clostridier (5,13). Disse tidligere studier har dog alle undersøgt påvirkning af bakteriel vækst under laboratorieforhold og altså ikke i det egentlige tarmmiljø.

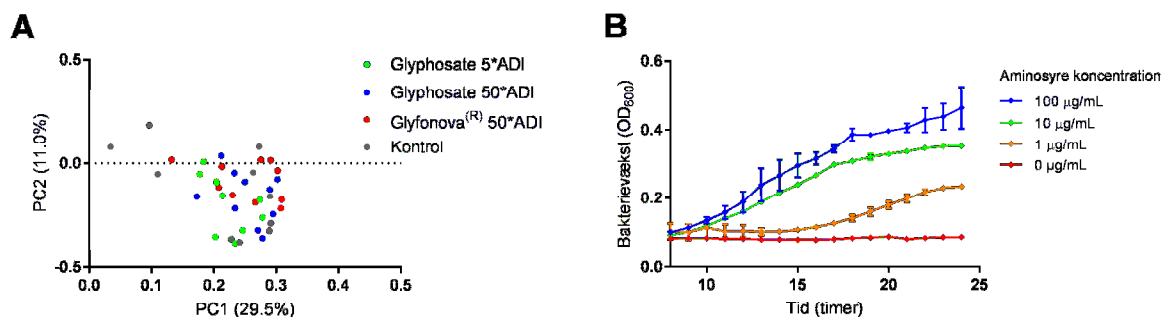


Fig. 2 (A) Principal coordinate plot (PCoA) der viser variationen i bakteriesammensætningen i cecum (blindtarm) efter 2 ugers dosering med glyphosat. Hver farvet prik repræsenterer et bakterielt samfund fra én prøve og farverne angiver de forskellige grupper. Der ses ingen klar separation mellem grupperne (farverne), hvilket indikerer, at der ikke er forskel i den overordnede bakteriesammensætning. Plottet er baseret på Bray Curtis afstande. (B) *Escherichia coli* dyrkes i et minimalmedium uden aromatiske aminosyrer (rød) tilsat en koncentration af glyphosat, der inhiberer vækst (MIC=0,08 mg/mL). Ved tilsætning af en blanding af de tre aromatiske aminosyrer i en koncentration på 1 µg/mL (orange), 10 µg/mL (grøn) og 100 µg/mL (blå) ses en gradvis forøgelse af vækst i mediet tilsat glyphosat. Altså *E. coli* kan vokse i et vækstmedium tilsat glyphosat, når der samtidig er aromatiske aminosyrer tilsat. Figuren er modificeret fra (6).

Undersøgelse af mikrobiota-forstyrrende effekter af glyphosat i en rottemodel

For glyphosat er der af EU fastsat en grænseværdi for dagligt tilladeligt indtag for mennesker (ADI) på 0,5 mg per kg legemsvægt. Vi har med udgangspunkt i denne grænseværdi, som nævnt ovenfor, gennemført et studium for at belyse effekter af glyphosat på bakteriesamfundet i tarmen på rotter, der eksponeres for henholdsvis 5x og 50xADI gennem en periode på to uger (fig. 1B). Vi ved fra tidligere studier, at bakteriesamfundet generelt ændres meget hurtigt efter eksponering for antibiotika, hvilket vi derfor også forventede for glyphosat grundet dets allerede dokumenterede antibiotiske egenskaber. Til forsøget inkluderede vi i alt 4 grupper af rotter, der blev doseret med enten det rene aktive stof glyphosat svarende til (A) 5xADI og (B) 50xADI, en gruppe (C), der blev doseret med 50xADI af et kommercielt formuleret glyphosatprodukt (Glyfonova® PLUS) samt en kontrolgruppe (D), der blev doseret med rent vand. Vi brugte high-throughput DNA sekventeringsteknikker til at bestemme bakteriesamfundets sammensætning umiddelbart før doseringen startede og efter 2 ugers dosering. Imod forventning fandt vi

ingen nævneværdig påvirkning af mikrobiotaen som følge af dosering med det rene aktive stof op til 50xADI (fig. 2A), men dog marginale ændringer af mikrobiotaens diversitet som følge af dosering med det kommercielt formulerede produkt. Vi kiggede også på ændringer i bakteriell aktivitet ved at se på koncentrationer af bakterielt producerede kortkædede fedtsyrer i tarmen. Her fandt vi, at den højeste eksponering på 50xADI resulterede i en lille nedsættelse af acetat (eddikesyre) koncentrationen i tarmen, hvilket kan indikere en svag påvirkning af de bakterier, der naturligt producerer dette stof. Acetat er tidligere blevet vist at have en anti-inflammatorisk effekt på tarmvævet og virke beskyttende mod *E. coli* infektion (14).

Begrænset glyphosatapvirkning af mikrobiota kan skyldes tilstrækkelige mængder aromatiske aminosyrer i tarmen

Vi undrede os over hvorfor vi ikke så en større påvirkning af bakteriesamfundet ved dosering med ganske høje mængder glyphosat, når vi vidste fra litteraturen, at glyphosat har en antimikrobiel effekt, og at der tidligere er vist effekter i jordmiljøet (15). En oplagt årsag kunne dog være, at der i tarmen, modsat jord-

miljøet, naturligt findes tilstrækkelige mængder aromatiske aminosyrer (tyrosin, phenylalanin og tryptophan) til at eliminere den antimikrobielle effekt af glyphosat forårsaget af manglende bakteriel syntese af aminosyrerne. Ved *in vitro* forsøg i laboratoriet viste vi, at tilsætning af aromatiske aminosyrer til vækstmediet forhindrede den antimikrobielle effekt af glyphosat (fig. 2B). Vi undersøgte derpå tarmindehold fra dyrestudiet for indhold af tyrosin, phenylalanin og tryptophan efter de 2 ugers dosering. Her fandt vi de højeste koncentrationer i tyndtarmen (omkring 100 µg/g for alle tre aminosyrer), hvilket var ventet, men samtidigt målte vi også temmelig høje koncentrationer i cecum og tyktarmen (mellem 0,1 og 10 µg/g for alle tre aminosyrer). Den relative høje koncentration af aromatiske aminosyrer kunne altså forklare, hvorfor vi ikke så nævneværdig påvirkning af bakteriesamfundet efter dosering med op til 50xADI af glyphosat.

Er glyphosat så ikke et problem?

I det omtalte dyrestudium havde vi primært fokus på at undersøge, om glyphosat ved oralt indtag kan ændre på det bakterielle samfund i tarmen. Konklusionen fra studiet er, at aktivstoffet glyphosat givet op til 50xADI gennem en periode på 2 uger ingen effekt har på bakteriesammensætningen i tarmen. Vi så dog en lille ændring i acetatkoncentrationen ved den højeste dosering. Resultater fra dosering med det formulerede kommercielle produkt viste en lille stigning i bakteriel diversitet og en lille, men signifikant, forøgelse af akutfaseproteinet i serum. Dette understøtter formodningen om, at formuleringsstofferne i de kommercielle produkter kan gøre en forskel, som også bør tages med i betragtning ved en risikovurdering. Selvom vi ikke så de store effekter på tarmbakterier, kan det naturligvis ikke udelukkes, at glyphosat og formuleringer heraf kan have andre problematiske effekter hos mennesker.

Læs mere om studiet

Denne artikel er baseret på resultater publiceret i tidskriftet *Environmental Pollution*: “*Glyphosate has limited short-term effects on commensal bacterial community composition in the gut environment due to sufficient aromatic amino acid levels*” (6). Studiet er finansieret af Miljøstyrelsens Program for Bekæmpelsesmiddelforskning (projekt nummer 667-00208).

Yderligere oplysninger:

Martin Iain Bahl

mbah@food.dtu.dk

Referencer

1. Shanahan F. *The gut microbiota—a clinical perspective on lessons learned*. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2012;9(10):609-14.
2. David LA, et al. *Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome*. Nature 2013;505(7484):559-63.
3. Tulstrup MVL, et al. (2015) *Antibiotic Treatment Affects Intestinal Permeability and Gut Microbial Composition in Wistar Rats Dependent on Antibiotic Class*. PLoS One 10(12). doi:10.1371/journal.pone.0144854.
4. Jin Y, Wu S, Zeng Z, Fu Z. *Effects of environmental pollutants on gut microbiota*. Environ Pollut 2017;222:1-9.
5. Shehata AA, Schrödl W, Aldin AA, Hafez HM, Krüger M. *The effect of glyphosate on potential pathogens and beneficial members of poultry microbiota in vitro*. Curr Microbiol 2013;66(4): 350-8.
6. Nielsen LN, et al. *Glyphosate has limited short-term effects on commensal bacterial community composition in the gut environment due to sufficient aromatic amino acid levels*. Environ Pollut 2018;233:64–376.
7. Ley RE, et al. *Evolution of mammals and their gut microbes*. Science 2008;320(5883):1647-51.
8. Wang M, Monaco MH, Donovan SM. *Impact of early gut microbiota on immune and metabolic development and function*. Semin Fetal Neonatal Med 2016;21(6):380-7.

-
9. Fetissov SO. *Role of the gut microbiota in host appetite control: bacterial growth to animal feeding behaviour.* Nat Rev Endocrinol 2016; 13(1):11-25.
 10. Conrad A, et al. *Glyphosate in German adults – Time trend (2001 to 2015) of human exposure to a widely used herbicide.* Int J Hyg Environ Health 2016;220(1):8-16.
 11. Krüger M, et al. *Detection of Glyphosate Residues in Animals and Humans.* J Env Anal Toxicol 2014;4(2).
doi:10.4172/2161-0525.1000210.
 12. Knudsen LE, Hansen PW, Mizrak S, Hansen HK, Mørck TA. *Biomonitoring of Danish school children and mothers including biomarkers of PBDE and glyphosate.* Rev Environ Health 2017;1-12.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28306542>
 13. Krüger M, Shehata AA, Schrödl W, Rodloff A. *Glyphosate suppresses the antagonistic effect of Enterococcus spp. on Clostridium botulinum.* Anaerobe 2013;20:74–8.
 14. Fukuda S, et al. *Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate.* Nature 2011;469(7331):543–7.
 15. Newman MM, et al. *Glyphosate effects on soil rhizosphere-associated bacterial communities.* Sci Total Environ 2016;543(Pt A):155–60.